

Análise morfométrica de imagens histológicas de osso compacto humano

Susana Ventura¹, Ana Carolina Delgado², Fernando Capela e Silva³, Luís Rato³

¹Escola Secundária de Valongo

Email: si.ventura1@gmail.com

²Colégio de S. Miguel, Fátima

Email: delgado.anacarolina@gmail.com

³Universidade de Évora

Email: fcs@uevora.pt; lmr@uevora.pt

Sumário — Neste trabalho faz-se a aplicação de técnicas de processamento de imagem e classificação à extração de características e análise morfométrica de imagens histológicas de osso compacto humano.

Palavras-chave — Processamento de imagem, osso compacto, classificação, histologia

I. INTRODUÇÃO

Este trabalho foi desenvolvido no âmbito do projeto dinamizado pela “Ciência Viva – Bones: ossos sob investigação”, com o objetivo de estudar características de osso compacto humano através de um processamento automático de imagens histológicas para caracterizar morfometricamente os canais de Havers.

As características morfométricas dos osteónios têm sido estudadas em animais e em humanos. Estas são um indicador que tem sido correlacionado com o sexo, a idade, o peso e a altura dos indivíduos [1, 2]. Assim, a caracterização dos osteónios, e em particular dos canais de Havers, torna-se uma das análises relevantes no estudo de imagens histológicas de osso compacto.

II. IMAGENS HISTOLÓGICAS

As imagens utilizadas foram obtidas usando um microscópio ótico equipado com uma câmara digital, ambos de marca Leica, com ampliações de 100X, a partir de lâminas com fins didáticos, com preparações de osso compacto humano desmineralizado (Ward's/Turttox), usando o programa Photoshop CS2.

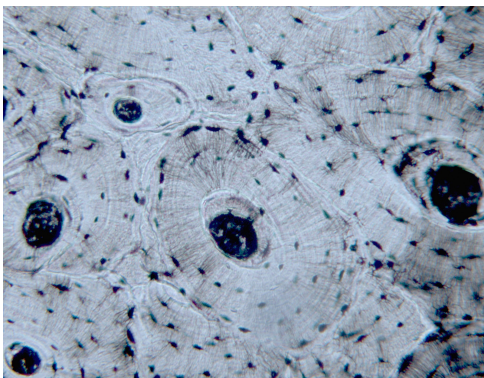


Figura 1. Imagem de osteónios, sendo visíveis os canais de Havers (*) e as lacunas dos osteócitos (setas). Original 100X

As imagens usadas neste trabalho são semelhantes à que se pode observar na Figura 1, tendo sido usadas 8 imagens digitais.

III. PROCESSAMENTO DE IMAGEM

O programa de edição de imagem utilizado foi o *software* livre ImageJ, versão 1.45s, tendo sido utilizadas funções como [3]:

- *Threshold* – esta função transforma a imagem original numa imagem a preto e branco comparando o brilho da imagem em cada pixel (que pode variar entre 0 e 255) com um valor parametrizável;
- *Convert to mask* – converte a imagem a preto e branco com base no *threshold*;
- *Median Blur* – reduz o ruído da imagem, substituindo cada pixel com o valor intermédio dos pixels vizinhos;
- *Fill Holes* – preenche os espaços vazios dentro de objetos;
- *Erode* – remove pixels dos limites dos objetos a preto;
- *Analyze Particles* – conta e mede diversas características dos objetos numa imagem que passou por um tratamento de *threshold*.

As ações sobre as imagens foram registadas em Macros que se aplicaram ao conjunto das imagens capturadas para tornar mais rápida a deteção e análise dos canais de Havers.

Veja-se abaixo a macro utilizada para a deteção dos canais de Havers.

```

run("Duplicate...", "title=[]");
run("8-bit");
run("Median...", "radius=10");
setAutoThreshold("Default");
//run("Threshold...");
setThreshold(0, 50);
run("Convert to Mask");
run("Fill Holes");
run("Erode");
run("Analyze Particles...", "size=000-Infinity
circularity=0.00-1.00 show=Outlines display include");
selectWindow("");
close();

```

Macro usada no processamento das imagens.

A macro indicada acima executa os seguintes passos:

- Converter a imagem para formato de 8 bits;
- Aplicar o filtro de mediana (*blur*) com raio igual a 10;
- Aplicar o filtro limiar (*threshold*) e gerar imagem a preto e branco, com *threshold* igual a 50;
- Preencher espaços vazios dentro dos objetos;
- Aplicar uma erosão (*erode* com uma iteração);
- Análise de objetos dentro dos limites estabelecidos.

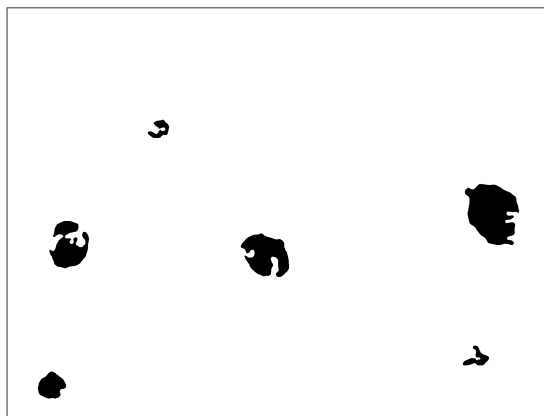
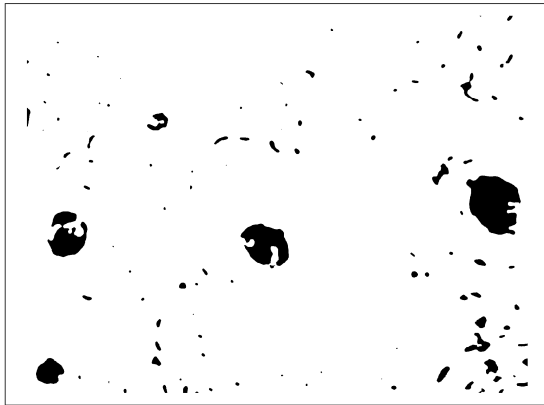


Figura 2. Imagens processadas com base na Macro definida (a primeira refere-se a um passo intermédio e a segunda é o resultado final).

IV. CLASSIFICAÇÃO

Sobre os objetos encontrados, procedeu-se à medição da circularidade e da área. Além disso, por observação direta, fez-se uma classificação de todos os objetos encontrados entre verdadeiros canais e outros objetos.

A figura 2 descreve alguns dos objetos encontrados, onde se pode observar que os objetos que correspondem aos canais não são completamente separáveis dos que não correspondem (usando apenas os parâmetros circularidade e área).

Com base na observação do Figura 3 definiu-se os intervalos de valores de área e circularidade que permitem obter um compromisso entre falsos positivos e falsos negativos.

Após este procedimento, estabeleceu-se a seguinte regra para a análise de partículas a classificar como canais:

$$3059 < \text{Área} < 50570$$

$$0.22 < \text{Circularidade}$$

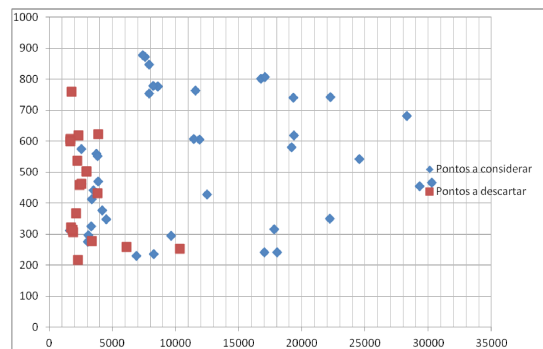


Figura 3. Distribuição das regiões analisadas em função da área e da circularidade.

Para a classificação das partículas como lacunas, testou-se um algoritmo semelhante em que se usou a seguinte regra:

$$\text{Área} < 3058$$

V. RESULTADOS

Após a aplicação da regra referida acima, foi possível obter resultados para a classificação dos objetos como canais de Havers que se podem observar através da matriz de confusão (ver abaixo).

	Class.N	Class.P
Real-N	14	5
Real-P	3	40

Com esta classificação conseguiu-se uma taxa de acerto de 87,1%, correspondente a uma taxa de erro de 12,9%.

Mostra-se abaixo um histograma das áreas, cuja média é 13333,3 pixels com valor de circularidade média de 0,540, considerando os objetos classificados manualmente, Figura 4.

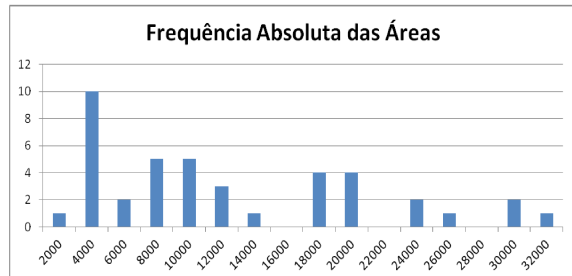


Figura 4. Frequência absoluta das áreas classificadas manualmente como canais de Havers.

Mostra-se abaixo um histograma das áreas, cuja média é 13202,1 pixels com valor de circularidade média de 0,527, considerando os objetos classificados através da Macro, Figura 5.

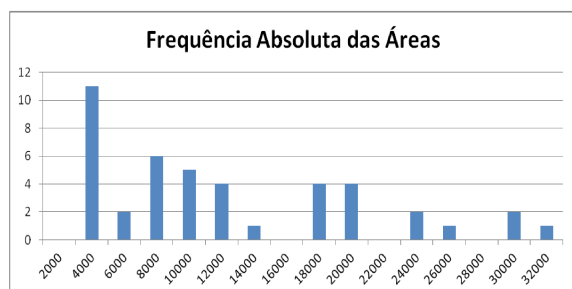


Figura 5. Frequência absoluta das áreas classificadas através do algoritmo como canais de Havers.

VI. CONCLUSÕES E TRABALHO FUTURO

Neste trabalho aplicaram-se métodos de processamento de imagem e fez-se uma análise morfométrica dos canais de Havers. Compararam-se os resultados de uma classificação manual com uma classificação automática, verificando-se que o valor das médias das áreas difere em menos de 1% e o valor das médias da circularidade difere em 2,4%.

Como trabalho futuro prevê-se a aplicação dos mesmos métodos na determinação de outras medidas morfométricas como as lacunas dos osteócitos, bem como a comparação de medidas morfométricas de osso compacto de outras espécies.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado na Universidade de Évora no âmbito do programa Ciência Viva no Laboratório, Ocupação Científica de Jovens nas Férias, ação “Bones - Ossos sob investigação” da responsabilidade do Departamento de Informática, com a colaboração do ICAAM - Instituto de Ciências Agrárias e Ambientais Mediterrânicas, e do Departamento de Biologia da Universidade de Évora.

REFERÊNCIAS

- [1] Diana M. Greenlee, Robert C. Dunnell, Identification of fragmentary bone from the Pacific, Journal of Archaeological Science, Volume 37, Issue 5., Pages 957-970, ISSN 0305-4403, May 2010.
- [2] Britz, Hayley M., C., David L. Thomas, John G. Clement, David M.L. Cooper, The relation of femoral osteon geometry to age, sex, height and weight, Bone, volume 45, issue 1, Pages 77-83, July 2009,
- [3] Manual do ImageJ <http://imagej.nih.gov/ij/> (consultado em 5 /7/2012)